

Title	Integration of Epstein-Barr Virus into Chromosome 6q15 of Burkitt Lymphoma Cell Line (Raji) Induces Loss of BACH2 Expression.
Author(s)	高桑, 徹也
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46361">https://hdl.handle.net/11094/46361</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 高 桑 徹 也

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19774 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 9 月 15 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 名 Integration of Epstein-Barr Virus into Chromosome 6q15 of Burkitt Lymphoma Cell Line (Raji) Induces Loss of *BACH2* Expression.  
(バーキットリンパ腫細胞株 Raji では EBV は染色体 6q15 に組み込まれ *BACH2* 遺伝子の発現は消失している)

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 青 笹 克 之

(副査)  
教 授 金 倉 譲 教 授 仲 野 徹

# 論文内容の要旨

## [ 目 的 ]

EBV は約 170 kb の二重鎖 DNA ウイルスでバーキットリンパ腫 (BL) や鼻咽頭癌などの悪性腫瘍発症と関係があるとされ、発がんメカニズムとしては LMP-1 や EBNA-2 といった潜伏関連遺伝子を中心に研究されている。一般に EBV は宿主のエピソームに環状で存在しているが、腫瘍では宿主ゲノムに組み込まれた状態で存在している例も少なく知られている。EBV 組み込みのクローニングによる直接的証明はこれまで BL 細胞株 Namalwa 1 株のみであり、その特徴は明らかでない。本研究では BL 細胞株 Raji を用いて EBV の宿主ゲノム組み込み部位をクローニングしその特徴を明らかにすること、組み込みによる腫瘍発生への関与の可能性を明らかにすることを目的とした。

## [ 方法ならびに成績 ]

Raji は BL から 1963 年に樹立され、世界中の研究室で広く使用されている細胞株のひとつである。Raji は約 50 コピー/細胞の EBV ゲノムのうち 10 コピー前後のウイルスが BamHI Y fragment に近い W fragment 上に組み込みがあると推察されている (Anvret et al, 1984)。

Raji から gDNA を抽出し、制限酵素 Hind III, BamHI などで切断、self ligation 後 inverse-PCR 法を用いて host およびウイルスゲノムを含む DNA fragment を増幅し、plasmid にクローニング後、sequencing を行った。Genomic southern blotting 法により予想されるサイズの aberrant band が認められること、および組み込み部位を跨ぐ PCR で予想されるバンドの増幅が得られることより、EBV 組み込み部位であることを確認した。組み込み部位は EBV の BamHI-W, BamHI-D fragment 上に存在した。両組み込み部位は染色体 6q15 [clone RP1-104D1] 上にあり両者の距離は 17 bp 離れていた。EBV の組み込みがヘテロかホモかは明かではなかったが、同部位を挟む PCR でバンドの増幅は得られなかった。宿主ゲノムと BamHI-W とは組み込み部位において 70% と高い相同性を示した。一方、BamHI-D との相同性は認めなかった。この EBV 組み込み部位は *BACH-2* 遺伝子の intron 1 に存在した。*BACH-2* は神経組織、造血組織で主に発現し、B-cell の分化、IgH 遺伝子発現の制御、酸化ストレス反応の抑制などに関与する遺伝子であることが知られている。Raji を含む 9 例の BL 由来細胞株で *BACH-2* の遺伝子、蛋白の発現を検討したところ Raji でのみ *BACH-2* の遺伝子、蛋白の発現が認められなかった。174 例の B 細胞性リンパ腫組織標本を用いて *BACH-2*

蛋白の発現を免疫組織化学法で検討した。陽性例は濾胞リンパ腫 39/45 例 (86.7%)、び慢性大細胞性リンパ腫 33/99 例 (33.3%)、マントル細胞リンパ腫 1/15 例 (6.7%) MAL Tonal/15 例 (6.7%) であった。

#### 〔 総 括 〕

バーキットリンパ腫細胞株 Raji において EBV 組み込み部位のクローニングを行いその特徴を明らかにした。EBV の組み込み部位は染色体 6q15 上にある B-cell の分化に関与する遺伝子 *BACH-2* の intron 1 に存在し、同遺伝子の発現は喪失していた。同遺伝子は癌抑制遺伝子の可能性が示唆されている報告もある。Raji では EBV の同部位への組み込みが発がんに関与した可能性も考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

EBV は約 170 kb の二重鎖 DNA ウイルスでバーキットリンパ腫 (BL) や鼻咽頭癌などの悪性腫瘍発症と関係があるとされ、発がんメカニズムとしては LMP-1 や EBNA-2 といった潜伏関連遺伝子を中心に研究されている。一般に EBV は宿主のエピソームに環状で存在しているが、腫瘍では宿主ゲノムに組み込まれた状態で存在している例も少なからず知られている。本研究では BL 細胞株 Raji を用いて EBV の宿主ゲノム組み込み部位をクローニングしその特徴を明らかにした。EBV の組み込み部位は染色体 6q15 上にある B-cell の分化に関与する遺伝子 *BACH-2* 内に存在し、同遺伝子の発現は喪失していた。同遺伝子は癌抑制遺伝子の可能性があり、Raji では EBV の同部位への組み込みが発がんに関与した可能性も考えられた。本研究は EBV のゲノム組み込みの解析というウイルス学的興味に加えて、組み込みが発がんに関与する可能性を示した点で重要な意味を持ち、博士 (医学) の学位授与に値する。